

تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی خیلی شدید بر بیان ژن خانواده *miR-29* و هایپرتروفی عضله‌ی قلبی رت‌های نر سالم

دکتر عباسعلی گائینی^۱، محسن جاویدی^۲، دکتر محمدرضا کردی^۳، دکتر مسعود سلیمانی^۴، دکتر علی اصغر فلاحتی^۵

نویسنده‌ی مسوول: تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده‌ی علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش M_Javidi@sbu.ac.ir

دریافت: ۹۳/۵/۳۰ پذیرش: ۹۳/۱۰/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: در این مطالعه تأثیر تمرینات تناوبی خیلی شدید بر بیان ژن خانواده *miR-29* که در قلب بیان شده و در فرآیندهای فیزیولوژیکی از جمله تنظیم ماتریکس برون سلولی شرکت می‌کند و نیز هایپرتروفی قلبی رت‌های نر سالم مورد آزمایش قرار گرفت. **روش بررسی:** در این پژوهش ۱۶ سر رت نر ویستار تهیه و به دو گروه کنترل ($n=8$) و تمرین ($n=8$) تقسیم و اجرای تمرین تناوبی خیلی شدید بر روی تردمیل، پس از یک هفته آشنایی، به مدت هشت هفته انجام شد. پروتکل ورزشی فزاینده شامل شش دقیقه گرم کردن (شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_{2max})، هفت اجرای تناوبی (چهار دقیقه با شدت ۸۰ تا ۹۰ درصد VO_{2max} و سه دقیقه با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_{2max}) و پنج دقیقه سرد کردن (شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_{2max}) بود. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رت‌ها تشریح و نمونه‌های قلبی در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. میزان بیان ژن‌های *miR-29a*، *miR-29b* و *miR-29c* به روش *RT-PCR* سنجیده شد و تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از آمار t مستقل انجام گردید. **یافته‌ها:** تمرین موجب افزایش معنادار بیان ژن‌های *miR-29a* به میزان ۲/۵ برابر، *miR-29b* به میزان ۲/۲۴ برابر و *miR-29c* به میزان ۴/۷۷ برابر در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل شد ($P<0.001$). همچنین تمرین تناوبی خیلی شدید موجب افزایش ۲۲ درصدی نسبت وزن قلب به وزن بدن شد ($P<0.001$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد تمرین موجب افزایش بیان *miR-29* شده است که با هایپرتروفی فیزیولوژیک و بهبود عملکرد قلبی مرتبط می‌باشد.

واژگان کلیدی: هایپرتروفی قلبی، تمرینات تناوبی خیلی شدید، *miR-29*

مقدمه

قلب نخستین اندامی است که در جنین شکل می‌گیرد و شروع به کار می‌کند و کل رخدادهای بعدی در زندگی سایر اندام‌ها، به انقباض پذیری بی‌وقفه این اندام وابسته است؛ اما در عین حال اختلالات قلبی عروقی در مقایسه با دیگر بیماری‌ها در سرتاسر دنیا شایع‌تر است و دلیل مرگ سالیانه حدود ۱۶/۷ میلیون نفر در جهان می‌باشد (۱). نشان داده‌شده

۱- دکترای فیزیولوژی ورزشی، استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران

۲- دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزش قلب و عروق و تنفس، دانشگاه شهید بهشتی تهران

۳- دکترای فیزیولوژی ورزشی، دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران

۴- دکترای هماتولوژی، دانشیار گروه هماتولوژی، دانشگاه تربیت مدرس

۵- دکترای فیزیولوژی ورزشی، استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شیراز

است فعالیت‌های ورزشی استقامتی عملکرد قلبی را در انسان بهبود می‌بخشد و سازگاری با فعالیت‌های ورزشی استقامتی، با افزایش VO_{2max} و افزایش برون ده قلبی و در نهایت با افزایش اندازه ی توده ی بطن چپ قلب ارتباط دارد (۲). در پاسخ به افزایش بار کار، قلب باید سخت‌تر از شرایط عادی و استراحتی کار کند که به افزایش اندازه ی وزن قلب منجر می‌شود و از آن جا که توانایی فرد در اجرای فعالیت‌های ورزشی به کارایی و عملکرد دستگاه‌های گوناگون بدن از جمله دستگاه قلبی عروقی بستگی دارد، با تمرینات ورزشی منظم و طولانی مدت، قلب دستخوش تغییراتی می‌شود که این تغییرات را پدید سازگاری قلبی در پاسخ به تمرینات ورزشی یا تغییرات فیزیولوژیک می‌نامند (۳). رشد فیزیولوژیکی قلب شامل رشد طبیعی پس از تولد، رشد ناشی از حاملگی و هایپرتروفی قلبی ناشی از فعالیت ورزشی است که بر روی هم هایپرتروفی فیزیولوژیک نامیده می‌شود (۴). همچنین، هایپرتروفی قلبی را توسعه ی توده بطن چپ قلب می‌دانند که در حجم ضربه‌ای و برون ده قلبی نقش دارد (۴). فعالیت‌های ورزشی، توانایی دستگاه قلبی عروقی را در پشتیبانی عضلات اسکلتی در حال ورزش ارتقا می‌دهد و اصلی‌ترین سازگاری عضلانی در بدن ورزشکار، افزایش اندازه یا توده سلول‌های عضله ی اسکلتی نوع ۲ و هایپرتروفی عضله ی قلبی ورزشکار به شمار می‌رود (۵). عضله ی قلبی در پاسخ به استرس‌های مکانیکی و محرک‌های مختلف رشد می‌کند و علت اولیه ی مولکولی آن را هایپرتروفی میوسیت‌های قلبی گزارش کرده‌اند (۶). یک تصور کلی آن است که دستگاه قلبی عروقی ورزشکاران در مقایسه با غیر ورزشکاران از نظر ساختاری و عملکردی فرق می‌کند و تغییرات مورفولوژیک در ورزشکاران، به نوع ورزش آنان بستگی دارد. هایپرتروفی نوعا در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک، هر دو حادث می‌شود که در شرایط فیزیولوژیک با ساختار طبیعی و عملکرد معمولی یا توسعه یافته همراه

است ولی هایپرتروفی پاتولوژیک نوعا با از بین رفتن میوسیت‌ها (آپتوز و نکروز)، اختلالات قلبی و افزایش خطر نارسایی قلبی و مرگ ناگهانی همراه است که سازوکارهای سلولی مولکولی این دو نوع هایپرتروفی باهم فرق می‌کند (۷). هرچند سازگاری‌های قلبی عروقی ناشی از فعالیت ورزشی به خوبی روشن شده است، اما سازوکارهای سلولی مولکولی که به این سازگاری‌ها منجر می‌شود، به‌طور کامل شناخته نشده است. نگرش صحیح واقعی در رویدادهای هایپرتروفی قلبی ناکامل است و به‌نظر می‌رسد در مقایسه با عضله ی اسکلتی، فرایندهایی که در عضله ی قلب رخ می‌دهد، خیلی پیچیده‌تر باشد (۸). $miRs$ (MicroRNAs)، مولکول‌های پروتئینی غیر کد کننده (رمزگشای) حفاظت شده‌اند که می‌توانند در فرایند رونویسی یا پس ترجمه‌ای، تنظیم‌کننده باشند (۱۰ و ۹). برآورد شده است بیش از ۱۰۰۰ miR توسط ژنوم انسان کدگذاری می‌شود. $miRs$ بیان بسیاری از ژن‌ها را در انسان تنظیم می‌کنند. از بین $miRs$ که تاکنون شناخته شده‌اند، برخی در سازوکار هایپرتروفی عضله ی قلبی نقش دارند (۷). یکی از آن‌ها خانواده ی $miR-29(a,b,c)$ است که از زمان کشف، مورد توجه متخصصان قلب و عروق قرار گرفته است. $miR-29$ در قلب یافت می‌شود و در سازوکارهای رشد، تمایز و هایپرتروفی قلبی درگیر می‌شود (۱۱). گزارش شده است در هایپرتروفی فیزیولوژیک ناشی از تمرینات ورزشی، $miRs$ نقش کلیدی دارند و $miR-29$ یکی از تنظیم‌کننده‌ها می‌باشد که با استرس بیرونی مثل فعالیت ورزشی تحریک و به سازگاری‌هایی منجر می‌شود (۱۲). از میان پژوهش‌هایی که به این موضوع پرداخته‌اند، سوسی و همکارانش در پژوهش خود افزایش بیان $miR-29a$ و $miR-29c$ را در هایپرتروفی در پاسخ به تمرینات شنای هوای کم شدت طولانی مدت در رت‌های ماده نشان دادند و گزارش کردند، بیان $miR-29b$ در گروه تمرین و کنترل تفاوتی نداشته است (۴). به تازگی،

می‌شود که آیا سازوکارهای درگیر در هایپرتروفی قلبی با توجه به عامل miR-29 پس از اعمال استرس بدنی تغییر خواهد کرد؟

روش بررسی

روش تحقیق حاضر تجربی بود که در آن تاثیر ۸ هفته تمرین تناوبی خیلی شدید بر بیان ژن miR-29 و هایپرتروفی عضله ی قلبی رت‌های نر سالم بررسی شده است. تعداد ۱۶ سر رت نر ویستار با محدوده وزنی 200 ± 20 گرم از موسسه پاستور ایران خریداری شد. سپس مطابق با خط مشی انجمن ایرانیان حمایت از حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده برای اهداف علمی و آزمایشگاهی، در حیوان خانه دانشکده ی تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران در ۱۶ قفس نگاه‌داری شدند.

رت‌ها در چرخه‌ی روشنایی تاریکی (۱۲ ساعت نور ۱۲ ساعت تاریکی) و رطوبت تقریباً ۵۰ درصد و درجه‌ی حرارت 22 ± 3 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. همچنین، رت‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. رت‌ها در دو گروه تمرین تناوبی خیلی شدید (HIIT) و گروه کنترل توزیع شدند. گروه کنترل در هیچ‌گونه فعالیت ورزشی شرکت نکرده ولی برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان ۵ بار در هفته به مدت ۱۰ تا ۳۰ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط بر روی نوار گردان بی‌حرکت قرار داده شدند.

برنامه فعالیت ورزشی: گروه تمرینی در هفته اول ۵-۳ روز برای آشنایی با تمرین تناوبی خیلی شدید به تمرین پرداختند. برنامه‌ی پروتکل ورزشی با توجه به پژوهش‌های هارمن و همکارانش (۱۳) و هویدال و همکارانش (۱۴) طراحی شد. هر جلسه برنامه پروتکل تمرین تناوبی خیلی شدید شامل یک ساعت فعالیت ورزشی بود که روال آن در جدول ۱ ارایه شده است.

پژوهش‌هایی نشان داده‌اند، تمرینات تناوبی خیلی شدید در توسعه‌ی ظرفیت هوازی ورزشی و عملکردهای قلبی عروقی افراد سالم و بیماران قلبی عروقی در مقایسه با تمرین‌های تداومی با شدت متوسط، موثرتر و مفیدترند. در یکی از این پژوهش‌ها، هارام و همکارانش گزارش کرده‌اند اجرای تمرین تناوبی خیلی شدید در کاهش خطر قلبی عروقی در رت‌های مبتلا به سندروم سوخت و سازی در مقایسه با تمرین‌های ورزشی با شدت متوسط سودمندترند (۱۳). هویدال و همکارانش با مقایسه‌ی دو فعالیت ورزشی با شدت متوسط و خیلی شدید (سه بار در هفته و به مدت ۱۶ هفته) در بیماران با علایم بیماری قلبی نشان دادند فعالیت ورزشی خیلی شدید تاثیر بیشتری در افزایش VO_{2max} و کاهش عوامل خطر قلبی و عملکرد عروقی دارد (۱۴). گویمارا اس و همکارانش در مقایسه‌ی دو فعالیت ورزشی تداومی و تناوبی (جلسه تمرینی ۴۰ دقیقه، دو نوبت در هفته به مدت ۱۶ هفته) در ۶۵ بیمار مبتلا به پر فشارخونی و سختی دهلیزی نشان دادند هر دو نوع برنامه در بهتر شدن فشارخون مفیدند، اما تنها برنامه‌ی ورزشی تناوبی باعث بهتر شدن سختی دهلیزی گردید (۱۵). ویسلف و همکارانش (۲۰۰۷) با بررسی و مقایسه‌ی دو شیوه تمرینی (تداومی متوسط و تناوبی شدید سه جلسه در هفته به مدت ۱۶ هفته) در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی نشان دادند تمرین‌های تناوبی شدید در توسعه و افزایش ظرفیت هوازی، عملکرد عروقی و کیفیت زندگی از تمرین‌های تداومی متوسط سودمندترند (۱۶). با وجود این و علی‌رغم مطالعات ورزشی فراوان، مطالعه‌ای تاثیر تمرین‌های تناوبی خیلی شدید را در تغییرات miRs بررسی نکرده است و از جهت دیگر از شدت فعالیت ورزشی و فعالیت بدنی به‌عنوان یک مقوله‌ی بسیار مهم در بررسی پژوهش‌های آینده یاد شده است. از این رو، در این مطالعه سعی شده است یکی از سازوکارهای درگیر در هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی در پاسخ به این نوع تمرین ورزشی بررسی شود و به‌ویژه به این سوال پاسخ داده

جدول ۱: پروتکل تمرین تناوبی خیلی شدید

مراحل تمرین	گرم کردن	بدنه اصلی تمرین (۷ تناوب)		سرد کردن
		تناوب شدید	تناوب بازیافت	
زمان تمرین (دقیقه)	۶ دقیقه	۴ دقیقه	۳ دقیقه	۵ دقیقه
شدت تمرین (VO_{2max})	۵۰ تا ۶۰ درصد	۸۰ تا ۹۰ درصد	۵۰ تا ۶۰ درصد	۶۰ تا ۷۰ درصد
شیب تردمیل (درجه)	صفر	۵ تا ۲۰ درجه		صفر

سنجش متغیرهای وابسته: ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، پس از ناشتایی شبانه از رت‌ها نمونه‌برداری بعمل آمد، سپس بلافاصله با ازت مایع منجمد شده و برای سنجش‌های بعدی به فریزر با دمای -80°C درجه‌ی سانتی گراد منتقل شدند. برای انجام مراحل Real time PCR از دو کیت پلی آدنیلایسیون و cDNA سازی استراتاژن (Stratagene) و کیت سنجش بیان ژن miR با دستگاه Real Time PCR (Stratagene) ساخت کشور آمریکا استفاده شد.

استخراج Total RNA: بافت‌ها با بافر تریزول اینوتروژن ساخت کشور آمریکا پیتاژ شدند و بعد از اضافه شدن ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم، ۱۵ دقیقه انکوبه گردید و بعد از سانتریفیوژ مایع حاوی mRNA جدا گردید. ۶۰۰ میکرولیتر اتانول اضافه و overnight در دمای -20°C درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از سانتریفیوژ و جداسازی رسوب یک میلی‌لیتر اتانول اضافه گردید و ورتکس و سانتریفیوژ شد. در آخر ۲۰ میکرولیتر آب مقطر به رسوب اضافه گردید و OD آن نیز خوانده شد و RNA در دمای -70°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

واکنش پلی آدنیلایسیون: برای هر نمونه RNA ی تام، یک Reaction مطابق دستورالعمل کیت ساخته شد و ترکیبات به آرامی و بدون ورتکس مخلوط و ۳۰ دقیقه در دمای 37°C درجه‌ی سانتی‌گراد (جهت انجام واکنش پلی آدنیلایسیون)، پنج دقیقه در دمای 95°C درجه‌ی سانتی‌گراد (جهت غیرفعال کردن آنزیم PAP) انکوبه و در

دمای -20°C درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. ساخت cDNA: برای هر نمونه RNA یک reaction مطابق دستورالعمل کیت ساخته شد و محصول ایجادشده را بدون ورتکس کردن و به آرامی مخلوط کرده و سپس با برنامه زیر در دستگاه ترموسایکلر انکوبه شد:

پنج دقیقه در دمای 55°C درجه‌ی سانتی‌گراد، ۱۵ دقیقه در دمای 25°C درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۰ دقیقه در دمای 42°C درجه‌ی سانتی‌گراد، پنج دقیقه در دمای 95°C درجه‌ی سانتی‌گراد. پس از اتمام مراحل ۲۸۰ میکرولیتر آب تزریقی به هر Reaction اضافه شد و برای استفاده در QPCR در دمای -20°C درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

انجام Real Time PCR: برای هر نمونه cDNA، یک Reaction مطابق دستورالعمل کیت تهیه شد و همچنین یک نمونه کنترل منفی با عنوان NTC (No Template Control) نیز تهیه شد که شامل تمامی موارد ترکیب به‌غیر از cDNA بود. همچنین برای هر نمونه cDNA نیز یک نمونه کنترل مثبت با پرایمر snRNA ی U6 به عنوان کنترل داخلی، و جهت آزمون حضور cDNA، تهیه شد. نمونه‌ها به آرامی و بدون ورتکس مخلوط و در دستگاه Real Time PCR (Corbett) با برنامه زیر PCR شد:

۱۰ دقیقه در دمای 95°C درجه‌ی سانتی‌گراد (واسرشته شدن اولیه)، ۱۰ ثانیه در دمای 95°C درجه‌ی سانتی‌گراد (واسرشته شدن ثانویه)، ۱۵ ثانیه در دمای 60°C درجه‌ی سانتی‌گراد (اتصال پرایمرها)، ۲۰ ثانیه در دمای 72°C درجه‌ی سانتی‌گراد

میانگین وزن قلب و نسبت آن به وزن بدن؛ میانگین و انحراف معیار وزن قلب و نسبت وزن قلب به وزن بدن در هر دو گروه تمرین و کنترل در پایان تمرین به شرح جدول ۳ می باشد. نتایج آزمون آماری t مستقل نشان داد، اجرای هشت هفته تمرین تناوبی خیلی شدید موجب افزایش معنادار میانگین HW/BW در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل شده است ($P < 0.001$).

جدول ۳، میانگین نسبت وزن قلب به وزن بدن در گروه تمرین و کنترل

گروه	وزن قلب (گرم)	وزن قلب/وزن بدن (میلی گرم/گرم)
تمرین	1.07 ± 0.05	3.54 ± 0.18
کنترل	0.96 ± 0.06	2.90 ± 0.07

داده ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد میانگین $\pm$ انحراف معیار آورده شده اند. نتایج آزمون آماری t مستقل نشان داد، اجرای هشت هفته تمرین تناوبی خیلی شدید موجب افزایش معنادار میانگین بیان miR-29a به میزان ۲/۲۴ برابر ($P < 0.001$)، miR-29b به میزان ۳/۵ برابر ($P < 0.001$) و miR-29c به میزان ۹/۷۷ برابر ($P < 0.001$) عضله قلبی در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل شده است (نمودار ۱).

(گسترش). واکنش از مرحله دوم به بعد، برای ۴۰ سیکل تکرار شد. Ct های مربوط به واکنش ها توسط نرم افزار دستگاه Real-Time PCR استخراج و ثبت گردید. برای کمی سازی مقادیر بیان ژن مورد نظر از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (۲) به توان منفی ($\Delta\Delta Ct$) استفاده شد.

روش های آماری: از آزمون شاپیروویلک (Shapiro-Wilk) برای بررسی طبیعی بودن داده ها در گروه های مورد مطالعه و آزمون آماری t مستقل برای مقایسه بین گروهی استفاده شد. سطح معناداری برای همه آزمون های آماری $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

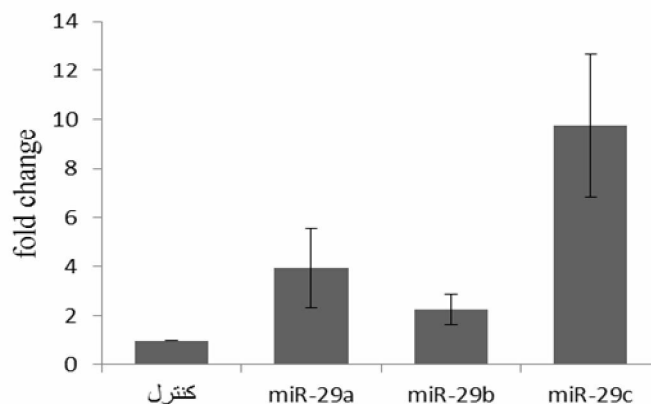
میانگین وزن بدن میانگین و انحراف استاندارد وزن بدن گروه های تمرین و کنترل در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲، میانگین و انحراف استاندارد وزن گروه ها

گروه	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)
کنترل (n=۸)	257 ± 13	330 ± 21
تمرین (n=۸)	247 ± 13	304 ± 19

داده ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد (میانگین $\pm$ انحراف

معیار) آورده شده اند.



نمودار ۱، میانگین تغییرات خانواده miR-29 چند برابری نسبت به گروه کنترل

وجود دارد ($P=0/007$) و ارتباط بین سایر اعضای این خانواده ژنی و هایپرتروفی هرچند مثبت است اما در سطح معنی داری نمی باشد (جدول ۴).

همچنین در این پژوهش نتایج آزمون همبستگی پیرسون نشان داد از بین این خانواده ی ژنی، تنها بین مقدار بیان ژنی miR-29c و هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی (وزن قلب/وزن بدن) ارتباط مثبت و معنی داری

جدول ۴: همبستگی بیان ژنی خانواده miR-29 و هایپرتروفی قلبی (وزن قلب/وزن بدن)

همبستگی متغیرها	miR-29a(n=8)	miR-29b (n=8)	miR-29C(n=8)
وزن قلب/وزن بدن	۰/۵۷۲	۰/۰۳۲	۰/۸۵۴
سطح معنی داری	۰/۱۳۹	۰/۹۴۱	*۰/۰۰۷

* نشانه معنی داری می باشد.

بحث

یافته های پژوهش حاضر نشان داد پس از هشت هفته اجرای تمرین تناوبی خیلی شدید، میانگین نسبت وزن قلب به وزن بدن (HW/BW) بین دو گروه کنترل و تمرین تفاوت معناداری داشته است که این نسبت در گروه تمرین حدود ۲۲ درصد در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشته است. یافته های کمی و همکارانش (۲۰۰۵)، ویسلف و همکارانش (۲۰۰۲) نیز این افزایش HW/BW را نشان دادند (۱۷-۱۹). در این مطالعات، همگی از تمرین تناوبی خیلی شدید استفاده کرده اند و نتایج آن ها هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی را نشان داده است. در پژوهش کمی و همکارانش (۲۰۰۵) با مقایسه تاثیر دو نوع پروتکل تناوبی با شدت خیلی زیاد و متوسط یک ساعته به مدت ده هفته گزارش شده است، تمرین با شدت خیلی زیاد، VO_{2max} را تا ۷۱ درصد، اما تمرین با شدت متوسط، VO_{2max} را به اندازه ۲۸ درصد افزایش می دهد (۱۷). این افزایش VO_{2max} رابطه ی تنگاتنگی با هایپرتروفی قلبی داشته است (۱۴ درصد هایپرتروفی در گروه تمرین با شدت خیلی زیاد و پنج درصد در گروه با شدت متوسط). در پژوهش مذکور گزارش شده است همبستگی تنگاتنگ VO_{2max} ، ابعاد میوسیت های قلبی و ظرفیت انقباض پذیری،

آثار بسیار مفید تمرینات با شدت خیلی زیاد را نشان می دهد و از شدت فعالیت ورزشی و فعالیت بدنی به عنوان یک مقوله ی بسیار مهم در بررسی پژوهش های آینده یاد شده است (۱۷). بیشتر مطالعاتی که تاثیر فعالیت ورزشی بر هایپرتروفی عضله ی قلبی را مطالعه کرده اند با پژوهش حاضر موافق هستند، اما آثار تمرین خیلی شدید روی تردمیل تاثیر بیشتری بر هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی داشته که با ارتقای VO_{2max} همراه بوده است، زیرا این موضوع اخیرا ثابت شده است که VO_{2max} زمانی به خوبی گسترش داشته است که مدت زمان تناوب فعالیت ورزشی شدید افزایش داشته است و تمرینات تناوبی خیلی شدید با تناوب های خیلی شدید باعث توسعه بسیار زیاد VO_{2max} در گروه تمرین می شود (۲۰). همچنین، گزارش شده است اگر هدف تمرین به حداکثر رساندن عملکرد دستگاه هوایی (هم جذب اکسیژن و هم ظرفیت اکسایشی عضلات) باشد (که طبق مطالعات، با هایپرتروفی قلبی ارتباط دارد) باید مدت زمان شدتی که فعالیت در آن نزدیک به VO_{2max} انجام می شود، دست کم دو الی چهار دقیقه و زمان بازیافت فعال و پویا بین دو تا سه دقیقه باشد که در پروتکل تمرین تناوبی خیلی شدید پژوهش حاضر این روش و اصول به کار گرفته شده است (۲۱).

یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد افزایش بیان مقادیر خانواده miR-29 با هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی همراه بوده است. در این راستا، miR-29c با بیان ۹/۷۷ برابری در مقایسه با گروه کنترل، بیش‌ترین بیان را در خانواده miR-29 داشته که با هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی ناشی از تاثیر تمرین تناوبی خیلی شدید ارتباط معنی‌داری داشته است. سوسی و همکارانش (۲۰۱۱) نیز در مطالعه خود افزایش بیان miR-29c در خانواده miR-29 قلبی همراه را با کاهش بیان ژنی کلاژن نوع یک و سه و تراکم پروتئینی و بهبود عملکرد کامپلیانس بطنی در پاسخ به تمرین ورزشی نشان داده‌اند (۴). در پژوهش آن‌ها گروه T2 (که حجم تمرین افزایش داشته است) با افزایش ۱۱۹ درصدی و گروه T1 با افزایش ۵۱ درصدی در بیان miR-29c در مقایسه با گروه کنترل همراه بوده که با هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی در ارتباط بوده است (افزایش ۱۳ درصدی نسبت وزن بطن چپ به وزن قلب در T1 و افزایش ۲۷ درصدی این نسبت در T2). هم‌چنین، نتایج نشان می‌دهد بیان ژن miR-29a در پژوهش حاضر با افزایش ۳/۵ برابری در مقایسه با گروه کنترل، با هایپرتروفی قلبی همراه، اما رابطه‌ی معنی‌داری وجود ندارد. در پژوهش سوسی و همکارانش نیز این miR با افزایش ۸۴ درصدی در گروه T1 نسبت به گروه کنترل با هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی ارتباط داشته است (۴). در این پژوهش مشاهده است با افزایش حجم تمرینات در گروه T2، بیان ژن miR-29a با کاهش همراه بوده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد تمرینات تناوبی خیلی شدید با افزایش بیان ۲/۲۴ برابری miR-29b در مقایسه با گروه کنترل همراه بوده است که ارتباط آن با هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است. اما سوسی هیچ گونه تغییری در این miR گزارش نکرده است که دلیل آن را می‌توان شدت پروتکل‌های این دو مطالعه دانست. در پژوهش سوسی، شدت تمرین شنا کم بوده است، اما در پژوهش حاضر تمرین تناوبی

خیلی شدید نزدیک به ۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی شدت داشته است که می‌تواند با اثر برمسیرهای درون سلولی هایپرتروفی فیزیولوژیک AKT با افزایش بیان ژن miR-29b در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل در ارتباط باشد. گزارش شده است آثاری که بر بیان خانواده miR-29 اعمال می‌شود در تنظیمات هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی و تنظیمات هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی مثل هم نیست، به‌طوری که خانواده miR-29 در هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی کاهش می‌یابد (۴). هم‌چنین، مطالعات نشان داده‌اند سازگاری‌های قلبی عروقی به فعالیت ورزشی به شدت برنامه ورزشی وابسته است و فعالیت ورزشی تناوبی خیلی شدید بهتر از فعالیت‌های با شدت متوسط می‌تواند باعث بهتر شدن شرایط فیزیولوژیک (از جمله هایپرتروفی فیزیولوژیک، انقباض‌پذیری میوسیت‌ها، کنترل کلسیم و آمادگی هوازی) شود (۱۹). پژوهش حاضر درست مثل پژوهش سوسی، نقشی کلیدی برای خانواده miR-29 قلبی در تمایز‌پذیری و تغییر شکل فیزیولوژیک قلب ارایه می‌کند. با این حساب، مطالعه‌ی حاضر که تاثیر تمرین تناوبی خیلی شدید را بر هایپرتروفی عضله‌ی قلبی همراه با سازوکار miR نشان می‌دهد، عناصر درمانی مفید در درمان بیماری‌های قلبی عروقی را نشان می‌دهد. در مطالعات قبلی (که پروتکل تمرین تناوبی خیلی شدید را استفاده کرده‌اند) نشان داده شده است افزایش اکسیژن مصرفی اوج با هایپرتروفی عضله‌ی قلبی رابطه‌ی خطی دارد (۱۷-۱۹).

لذا در پژوهش حاضر که هایپرتروفی قلبی به خوبی مشاهده شده است به نظر می‌رسد، هرگونه تغییر در وزن قلب با بهتر شدن سرعت دوییدن رت‌ها و افزایش حداکثر اکسیژن مصرفی آن‌ها همراه بوده است. نتایج پژوهش حاضر در کل نشان می‌دهد هرگونه تغییر فیزیولوژیک هایپرتروفی قلب ریشه در افزایش عملکرد هوازی دارد. هم‌چنین، مطالعات گذشته نشان می‌دهند تمرینات استقامتی به هایپرتروفی سستریک قلبی

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان می دهد سازگاری فیزیولوژیک هایپرتروفی استتريک قلبی ناشی از اجرای تمرینات تناوبی خیلی شدید با بیان ژن خانواده miR-29 تنظیم می شود، اما این که آیا همه انواع هایپرتروفی ناشی از فعالیت های متفاوت ورزشی با بیان این ژن همراه هستند یا خیر نیاز به بررسی های بیشتری دارد. پیشنهاد می شود این پژوهش در بیماران قلبی با هایپرتروفی پاتولوژیک و سایر تمرینات ورزشی که منجر به هایپرتروفی کانستریک می شود نیز انجام شود تا شاید بتوان مرزهای انواع هایپرتروفی قلبی را به خوبی تعیین کرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد در دانشگاه تهران می باشد. نویسندگان این مقاله به پاس زحمات و لطف کارکنان بخش هماتولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس و دانشجویان این بخش جهت کمک در انجام سنجش های این پژوهش نهایت تشکر و قدردانی را ابراز می دارند.

References

- 1- Rohini A, Agrawal N, Koyani C, et al. Molecular targets and regulators of cardiac hypertrophy. *Pharmacological Research*. 2010; 61: 269-80.
- 2- Braun LT. Physiologic versus pathologic hypertrophy: endurance exercise and chronic pressure overload. *J Cardiovasc Nurs*. 1994; 8: 39-56.
- 3- Gaeini AA, Kazemi F, Mehdiabadi J, et al. The effect of 8-week aerobic interval training

منجر می شود که در آن دیواره ی بطن چپ قلب در پاسخ به اضافه بار حجمی ناشی از تمرینات تناوبی استقامتی، هایپرتروفی می شود (۲۴-۲۲). همچنین، نشان داده شده است هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی ناشی از فعالیت ورزشی، با بیان ژن مارکرهای هایپرتروفی پاتولوژیک همراه نمی باشد. اضافه بر این، هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی ناشی از فعال شدن مسیر سیگنالی فسفاتیدید AKT باعث بهتر شدن عملکرد سیستمی و افزایش برون ده قلبی شده است (۶). این ویژگی های مولکولی که با بهتر شدن انقباض پذیری و عملکرد بطنی ارتباط دارد می تواند هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی را از هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی متمایز کند (۲۵). تمرین ورزشی با افزایش خطی مسیر سیگنالی AKT همراه می باشد که مسیر کلاسیکی هایپرتروفی فیزیولوژیک به شمار می رود (۴) که درست مثل پروتکل پژوهش حاضر می باشد که باعث هایپرتروفی فیزیولوژیک شده است. از این رو، به نظر می رسد که در این پژوهش، افزایش بیان خانواده miR-29 با افزایش مسیر سیگنالی هایپرتروفی فیزیولوژیک AKT ارتباط دارد. در کل، نتایج پژوهش نشان می دهد سازگاری های بیوشیمیایی با اجرای تمرین تناوبی خیلی شدید ارتباط دارد.

- and a detraining period on left ventricular structure and function in non-athlete healthy men. *Zahedan J Res Med Sci*. 2012; 13: 16-20.
- 4- Soci UPR, Fernandes T, Hashimoto N Y, et al. MicroRNAs 29 are involved in the improvement of ventricular compliance promoted by aerobic exercise training in rats. *Physiological Genomics*. 2011; 43: 665-73.
 - 5- Barauna VG, Rosa KT, Irigoyen MC, et al. Effects of resistance training on ventricular

- function and hypertrophy in a rat model. *Clin Med Res.* 2007; 5: 114-20.
- 6- Gupta S, Das B, Sen S. Cardiac hypertrophy: mechanisms and therapeutic opportunities. *Antioxidants & redox signaling.* 2007; 9: 623-52.
- 7- Ellison GM, Waring CD, Vicinanza C, et al. Physiological cardiac remodeling in response to endurance exercise training: cellular and molecular mechanisms. *Heart.* 2012; 98: 5-10.
- 8- Carreño JE, Apablaza F, Ocaranza MP, et al. Cardiac hypertrophy: molecular and cellular events. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*, 2006; 59: 473-86.
- 9- Shafiee A, Kordi MR, Gaeini AA, et al. The effect of eight week of high intensity interval training on expression of mir-210 and ephrinA3 mrna in soleus muscle healthy male rats. *J Arak Univ Med Sci.* 2014; 17: 26-34.
- 10- Mondanizadeh M, Mosayebi G, Arefian E, et al. Bioinformatic evaluation of the miR-124 effect on transcription factors involved in neurogenesis process. *J Arak Univ Med Sci.* 2014; 17: 73-81.
- 11- Tjonna AE, Lee SJ, Rognmo O, et al. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome a pilot study. *Circulation.* 2008; 118: 346-54.
- 12- Fernandes T, Soci UPR, Oliveira EM. Eccentric and concentric cardiac hypertrophy induced by exercise training: microRNAs and molecular determinants. *J Med Biologic Res.* 2011; 44: 836-47.
- 13- Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovascular research.* 2009; 81: 723-32.
- 14- Hoydal M, Wisloff U, Kemi O, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Euro J Cardiovasc Prevent Rehabil.* 2007; 14: 753-60.
- 15- Guimarães GV, Ciolac EG, Carvalho VO, et al. Effects of continuous vs. interval exercise training on blood pressure and arterial stiffness in treated hypertension. *Hyperten Res.* 2010; 33: 627-32.
- 16- Wisloff U, Stoylen A, Loennechen JP, et al. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients a randomized study. *Circulation.* 2007; 115: 3086-94.
- 17- Kemi OJ, Haram PM, Loennechen JP, et al. Moderate vs. high exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. *Cardiovasc Res.* 2005; 67: 161-72.
- 18- Wisloff U, Loennechen JP, Currie S, et al. Aerobic exercise reduces cardiomyocyte hypertrophy and increases contractility, Ca²⁺ sensitivity and SERCA-2 in rat after myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2002; 54: 162-74.
- 19- Kemi OJ, Loennechen JP, Wisløff U, et al. Intensity-controlled treadmill running in mice:

- cardiac and skeletal muscle hypertrophy. *J App Physiol*. 2002; 93: 1301-09.
- 20- Nigam A, Gremeaux V, Meyer P, et al. High-intensity interval training in cardiac rehabilitation. *Sports Medicine*. 2012; 42: 587-605.
- 21- Maklaren D, Morton J. Biochemistry for sport and exercise metabolism: translated by Gaeini AA. Tehran, Iran. samt publication; 2012.
- 22- Medeiros A, Oliveira E M, Gianolla R, et al. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. *Brazilian J Med Biol Res*. 2004; 37: 1909-1917.
- 23- Evangelista FS, Brum PC, Krieger JE. Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice. *Brazil J Med Biol Res*. 2003; 36: 1751-59.
- 24- Oliveira EM, Sasaki MS, Cerêncio M, et al. Local renin-angiotensin system regulates left ventricular hypertrophy induced by swimming training independent of circulating renin: a pharmacological study. *Journal of Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. 2009; 10: 15-23.
- 25- McMullen JR, Jennings GL. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy: novel therapeutic strategies to treat heart failure. *Clin Experiment Pharmacol Physiol*. 2007; 34: 255-62.
- Duration-controlled swimming exercise training

The Effect of 8 Weeks of High Intensity Interval Training on Mir-29 Gene Family Expression and Cardiac Hypertrophy of Healthy Male Rats

Gaeini AA¹, Javidi M², Kordi MR¹, Soleimani M³, Fallahi AA⁴

¹Dept of Exercise Physiology, Tehran University, Tehran, Iran

²Dept of Exercise Physiology, Faculty of Sport and Exercise Sciences Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

³Dept of Hematology, Tarbiat Modarres University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴Dept of Exercise Physiology, Shiraz University, Shiraz, Iran

Corresponding Author: Javidi M, Dept of Exercise Physiology, Faculty of Sport and Exercise Sciences Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

E-mail: M_Javidi@sbu.ac.ir

Received: 21 Aug 2014 **Accepted:** 5 Jan 2015

Background and Objective: In this study the effect of high intensity interval training on miR-29 expression that is expressed in the heart and in the regulation of physiological processes, including extracellular matrix and cardiac hypertrophy of healthy male rats were examined.

Materials and Methods: 16 Wistar rats were divided into training (n=8) and control (n=8) groups. After one week of familiarization, the training protocol was performed for 8 weeks. The progressive training protocol included 6 min warm up (with 50 to 60% of VO_{2max}), 7 frequency (4 min with 80 to 90% of VO_{2max} and 3 min with 50 to 60% of VO_{2max}) and 5 min cool down with 50 to 60% of VO_{2max}. The animals were sacrificed 24 hours after the last session of training program and cardiac samples were kept at a temperature of - 80 ° C and the variable expression levels (miR-29a, miR-29b and miR-29c) were measured by RT-PCR method. Analysis of the results was performed by independent t-test.

Results: Training led to a significant increase in miR-29a (3.5 fold), miR-29b (2.24 fold) and miR-29c (9.77 fold) gene expression in the training group compared with the control group (p<0.001). Also training brought about 22% increase in heart weight to body weight ratio (HW/BW) in the training group (p<0.001).

Conclusion: These results point out that training increases miR-29 expression which is associated with physiological cardiac hypertrophy and improved heart performance.

Keywords: Cardiac hypertrophy, High intensity interval training, MicroRNA-29